动 物 学 研 究 2013，Apr. 34(2): 103−107 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI：10.3724/SP.J.1141.2013.02103

用弥散张量成像检测猕猴大脑运动区占位病变对健侧皮质脊髓束的作用

李经辉[1]，马芳州[1]，王载忠[1]，鲁 毅[2]，吴海鹰[3]，孙学进[2,*]，余化霖[1,*]

1. 昆明医科大学第一附属医院 神经外二科, 云南 昆明 650032；
2. 昆明医科大学第一附属医院 放射科，云南 昆明 650032；
3. 昆明医科大学第一附属医院 急诊科，云南 昆明 650032

摘要：因皮质脊髓束 (corticospinal tract , CST) 损伤而造成的运动功能丧失可得到一定恢复，但关于大脑运动区占位性病变对健侧 CST 结构功能影响的研究却相对较少。该研究采用两只健康猕猴行球囊置入术建立大脑运动区占位性病变模型，行 4 次磁共振弥散张量成像 (diffusion tensor imaging，DTI) 扫描，检测手术区对侧 CST 的 FA 值（“各向异性”值), 发现球囊置入术后当天，对侧 CST 的 FA 值无明显变化，但随时间的延长升高，球囊取出术后一周更为明显。实验表明该模型可行、可靠，从 DTI 观察到病变健侧 CST 出现代偿，即使占位解除短期内这一作用仍明显，提示健侧 CST 共同参与瘫痪肢体功能的恢复。

关键词：猕猴；大脑运动区占位病变模型；皮质脊髓束；弥散张量成像
中图分类号：Q959.848 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)02-0103-05

A DTI study of the contralateral corticospinal tract modeled through simulated intracranial space-occupying lesions in macaque brain motor areas

Jing-Hui LI[1], Fang-Zhou MA [1], Zai-Zhong WANG[1], Yi LU[2], Hai-Ying WU[3], Xue-Jin SUN[2,*], Hua-Lin YU[1,*]

1. *First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Second Department of Neurosurgery, Kunming* 650032, *China*；
2. *First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Department of Radiology, Kunming* 650032, *China*；
3. *First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Department of Emergency, Kunming* 650032, *China*

Abstract: Recent studies found that a loss of motor function following corticospinal tract (CST) damage can, to some extent, be restored. Few studies, however, examine how space-occupying lesions in the brain motor area may affect the contralateral CTS structure and function. We performed a simulation of intracranial space-occupying lesions in the brain motor area by implanting of balloons into the brains of the two healthy macaques. Diffusion tensor imaging (DTI) was performed on the macaques' brains four times to measure the FA values of the contralateral CST operative area. The results showed that on the day of balloon implantation, the FA values had no obvious effect, but with time the effect increased, becoming increasingly apparent one week after removing the balloons. Experimental results demonstrated that this model was both feasible and reliable. After the simulated space-occupying lesions occurred in the brain motor area, DTI showed a compensatory response of the contralateral CTS, which remained for a short period of time even after the lesions were removed. This result suggests that the contralateral CST may then also contribute to recovery of limb function.

Keywords: Macaque; Simulation model of intracranial space-occupying lesions; Corticospinal tract; Diffusion tensor imaging

颅内占位性病变是中枢神经系统常见疾病，如肿瘤、血肿及炎症等，位于大脑运动功能区及其附近的占位性病变，可造成肢体瘫痪、颅内高压等临床症状。目前，手术切除病变仍是常用治疗手段，

收稿日期：2012-10-15；接受日期：2013-03-05
基金项目：云南省联合基金项目 (2008CD006)
*通信作者(Corresponding authors)，E-mail: yuhl308@126.com；sunxuejinkm@126.com
第一作者简介：李经辉, 昆明医科大学第一附属医院神经外二科, 昆明医科大学在读博士研究生, E-mail: km_ljh@126.com

但手术风险大，易发生较严重的并发症，造成永久性肢体功能丧失。

大脑半球额叶运动区皮质锥体细胞及其轴突组成的皮质脊髓束 (corticospinal tract，CST)是控制肢体运动的直接中枢神经结构，是中枢神经系统最大的下行白质束，主要起自额叶的中央前回皮质。CST 主要支配肢体远端的肌肉，控制骨骼肌的随意运动，特别是细微的主动运动 (Susan, 2005)，如绣花等。CST 损伤造成的功能丧失可以部分恢复 (Meintzschel & Ziemann, 2006; Dong, 2006)，但由于人体大脑运动功能区占位性病变的不可预知性，故无法准确追踪病情发展过程、开展实验性检查和创新性治疗以及准确选择条件相同的样本，因此，建立能够模拟人脑功能区占位性病变发病机制及病理过程和临床转归一致的动物模型是开展相关研究的前提。猕猴在进化地位、生理学、解剖学、遗传学、系统发育学等方面与人类非常相近 (Kuai et al, 2009)，且其基因组也已得到破译 (Liao & Su, 2012)，是适用于大脑运动功能区占位性病变研究的模型动物。

颅内大脑运动区占位病变以压迫推挤白质纤维束所致的对侧肢体功能障碍为主要临床表现，临床以手术摘除病灶，解除压迫为目的。因此，本研究在猕猴脑运动区表面建立逐渐扩大的球型占位模型压迫推挤 CST 以致对侧肢体瘫痪，1 周后取出球囊，模拟临床发病过程。自由水的随机扩散在不同方向上程度相同，即所谓“各向同性”，而不同组织器官中各异的水含量可导致水分子在不同方向上扩散的不一致，且这种不一致可通过计算得到客观指标并得以量化。基于此原理，无创性磁共振弥散张量成像 (diffusion tensor imaging，DTI) 技术能够在活体脑组织中显示白质纤维束的走行、排列、方向、紧密度和髓鞘化以及细胞的完整性和病理变化等 (Le et al, 2003; Eriksson et al, 2001)。在中枢神经系统中，由于轴突膜和髓鞘将阻碍水分子在垂直于神经纤维走向上的扩散，即部分“各向异性” (fractional anisotropy, FA) (Beaulieu & Allen,1994)，而脑白质纤维束总是向同一方向走行，水分子的水平方向扩散速度明显快于垂直方向。FA 值的大小主要与髓鞘的完整性、纤维致密性及平行性等有关 (Chenevert et al,1990)，数值在 0～1 之间，1 为最大各向异性，0 为最小各向异性。由于脑白质有大量的纤维传导束，其表面包绕的髓鞘及少突胶质细胞等将阻碍水分子的扩散，FA 值升高，影像上呈高信号，说明神经传导功能越强 (Barrick & Clark, 2004; Klose et al, 2004)。脑脊液呈液态，比重为 1，其中水分子几乎可自由活动，FA 值很低，影像上呈低信号。目前 DTI 研究多集中在脑梗塞、出血及肿瘤等病变与同侧脑白质区纤维束变化的关系（Yu et al, 2009)，而对大脑运动区占位性病变手术前后与健侧 CST 的相关性研究很少。

本研究旨在建立能够模拟临床大脑运动区占位性病变的猕猴动物模型，应用 DTI 探讨大脑运动区占位性病变所造成的对侧肢体运动障碍，监测手术前后病变对侧 CST 的 FA 值动态变化过程，并了解健侧 CST 是否也参与瘫痪肢体功能的恢复。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康猕猴两只，5 a 龄，一号猴体重 7.1 kg、二号猴体重 7.8 kg，饲养于中国科学院昆明动物研究所实验动物中心，动物饲养及实验经实验动物使用和伦理委员会批准并符合 AAALAC 规范。

1.2 实验方法

1.2.1 猕猴大脑中央前回占位病变模型的制备及护理

实验猕猴术前禁食 12 h，禁水 6 h。常规肌注麻醉 (0.4 mg/kg 阿托品，15 mg/kg 氯胺酮，15～30 mg/kg 戊巴比妥) 后俯卧位固定；猕猴立体定向头架固定头颅并保持气道通畅，根据猕猴脑定位图谱确定左侧皮质中央前回运动区为手术区域；备皮、消毒后行弧形切口，依次切开皮肤、皮下组织、帽状腱膜及骨膜，显露颅骨，钻孔两个，铣刀铣出 2×3 cm^2 的骨窗；小心剪开 1 cm 硬脑膜，将未注水球囊慢慢送入硬膜下中央前回脑表面，吸取生理盐水 1.5 mL，每 5 min 注射 0.5 mL 入球囊，注射完毕后将球囊远端结扎，严密缝合硬脑膜，回纳骨瓣，分层缝合切口；术后右侧卧位，待其自然苏醒。术后 4 h，猕猴意识清醒并且活跃，给予食物及饮水。

1.2.2 猕猴运动区球囊取出术

麻醉、备皮及消毒后 (方法同前)，依次剪开切口各层组织缝线，用注射器小心缓慢抽出球囊中的水，待其收缩完全后缓慢取出球囊，仔细止血后严密缝合切口。

1.2.3 模型评价指标

麻醉苏醒后的猕猴出现对侧肢体功能障碍。参

照 Glasgow 评分 (Teasdale & Jennett,1974), 制定功能评分表，0 分：正常；1 分：对侧前后肢不能完全伸直；2 分：行走时向对侧 (右) 倾抖；3 分：行走时身体向对侧 (右) 倾倒；4 分：不能站立和自发行走，意识障碍。动物麻醉清醒后观察神经功能缺失情况，≥3 分者符合研究实验条件。

MRI 检查球囊位于左侧中央沟前份硬膜下，中线向右侧移位。

1.3　DTI 检查

每只猕猴行四次 DTI 检查 (Achieva 3.0T 超导核磁共振扫描仪，荷兰 PHILIPS 公司)。第 1 次：手术前 1 d (Before 组)；第 2 次：球囊置入术当天 (Just 组)；第 3 次：球囊置入术后 7 d (球囊取出术前 1 d (Remove 组)；第 4 次：第一次术后 14 d (球囊取出术后 7 d (Recover 组)。给予标准膝关节线圈扫描、磁共振 MP-RAGE 及 DT-MRI 扫描，且每次 DTI 序列均连续扫描 12 次。采集图像数据经后处理，给予变形纠正与配准校正。

处理后每个层面获得 FA 值平均图，选取健侧 CST 为感兴趣区 (regions of interest, ROI)，测量 FA 值。ROI 以双侧对称且小于解剖结构大小为标准，避免邻近组织的影响。

1.4　统计学方法

采用 SPSS17.0 统计软件进行相关统计学分析，计量资料数据以 mean±*SD* 表示， 两组间差异采用秩和检验及非参数检验，秩次方差分析方法进行统计学处理，*P*<0.05 差异显著。

2　结　果

2.1　猕猴术后对侧肢体功能评分比较

两只猕猴术后对侧肢体均出现功能障碍 (表 1，表 2)，术后对侧肢体活动评分无差异 (*P*>0.05)；同侧肢体功能未受影响，各时间段评分均为 0 分，与对侧肢体功能评分行秩和检验，*P*<0.05 提示术后对侧肢体活动较同侧差；球囊置入术后与取出术后对侧肢体功能评分行秩和检验，一号猴 *P*<0.05，二号猴 *P*<0.05，提示两只猕猴的对侧肢体活动功能在球囊取出术后较置入术后有所恢复。

2.2　四次 DTI 检查手术区对侧 CST 的 FA 值统计学分析

一号猴 DTI 检查手术区对侧 CST (图 1)FA 值行非参数检验秩次方差分析，可见秩次在四组间差异

表 1　猕猴球囊置入术后对侧肢体功能评分表

Table 1　Contralateral limb function in macaques after balloon implantation

术后 Post-operation	当天 Same day	1 天 1d	2 天 2d	3 天 3d	4 天 4d	5 天 5d	6 天 6d	7 天 7d
一号猴 Macaque 1	4	3	3	3	3	3	2	2
二号猴 Macaque 2	3	3	3	3	3	2	2	2

Z=−0.617，渐进显著性 (双侧) *P*=0.537，精确显著性 (单侧显著性)*P*=0.721，*P*>0.05。

Z=−0.617，Asymp.sig. (2-tailed) *P*=0.537，Exact sig [2*(1-tailed sig.)] *P*=0.721, *P*>0.05.

表 2 猕猴球囊取出术后对侧肢体功能评分表

Table 2　Contralateral limb function in macaques after balloon removal

术后 Post-operation	当天 Same day	1 天 1d	2 天 2d	3 天 3d	4 天 4d	5 天 5d	6 天 6d	7 天 7d
一号猴 Macaque 1	2	2	2	2	2	1	1	1
二号猴 Macaque 2	2	2	2	2	1	1	1	0

Z=−0.657，渐进显著性(双侧) *P*=0.511，精确显著性(单侧显著性)*P*=0.574，*P*>0.05。

Z=−0.657，Asymp.sig (2-tailed) *P*=0.511，Exact sig [2*(1-tailed sig.)] *P*=0.574, *P*>0.05.

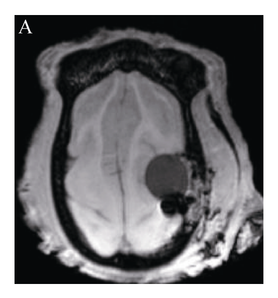
表 3　两只猕猴四次 DTI 的 FA 值 (mean±*SD*)

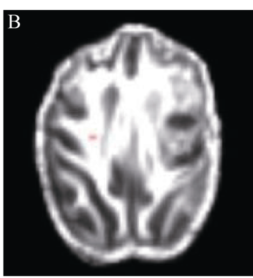
Table 3　FA values of 4 DTI on two macaques (mean±*SD*)

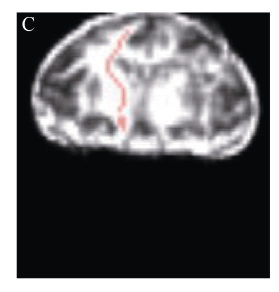
	术前 Before (before operation)	术后当天 Just (day of operation)	球囊取出前 1 天 Remove (day before balloon removal)	球囊取出术后一周 Recover (7 days after balloon removal)
一号猴 Macaque 1	0.3570±0,0038	0.3588±0.0089	0.3651±0.0076	0.3991±0.0059
二号猴 Macaque 2	0.4974±0.0095	0.4985±0.0227	0.5028±0.0064	0.5344±0.0056

显著 (F=20.679，P=0.000，P<0.05)，使用 LSD 法进行 4 组间两两比较，Before 组与 Just、Remove 及 Recover 组的比较 P 值分别为 0.386、0.003 及 0.000；Just 组与 Remove、Recover 组的比较 P 值分别为 0.031、0.000；Remove 组与 Recover 组的比较 P 值为 0.000。说明球囊置入术后当天，对侧 CST 的 FA 值无明显变化，但随着时间的延长而升高，于球囊取出术后一周更为明显。

二号猴 DTI 检查手术区对侧 CST (图 2) FA 值行非参数检验秩次方差分析，可见秩次在 4 组间差异显著 (F=20.815，P=0.000，P<0.05),使用 LSD 法进行 4 组间两两比较， Before 组与 Just、Remove 及 Recover 的比较 P 值分别为 0.288、0.126 及 0.000；Just 组与 Remove、Recover 组的比较 P 值分别为 0.632、0.000；Remove 组与 Recover 组的比较 P 值为 0.000。说明球囊置入术后当天及取出术前当天对侧 CST 的 FA 值无明显变化，但随着时间的延长明显高于正常值，与一号猴相符。







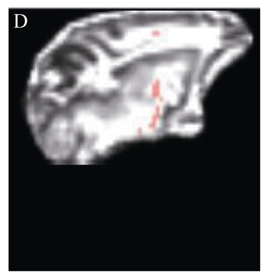
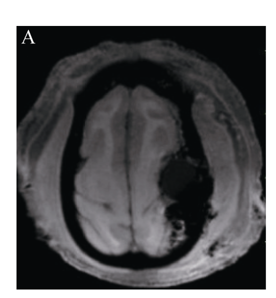
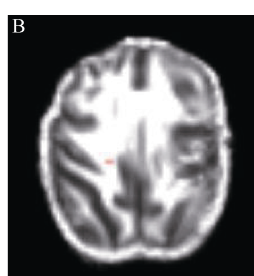
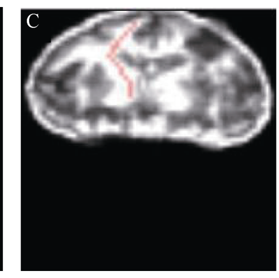


图 1 一号猴球囊置入术后 MRI
Figure 1 Macaque 1 postoperative MRI







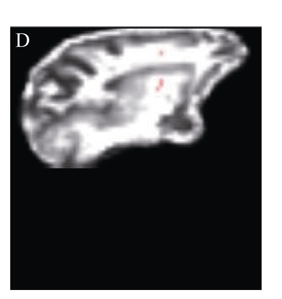


图 2 二号猴球囊置入术后 MRI 影像
Figure 2 Macaque 2 postoperative MRI
A：置入球囊当天 T1 像，平均 FA 后的感兴趣区 (CST)： B：轴位、C：冠状位、D：矢状位。
A: postoperative T1 image. Anatomical regions of interest (CST): B: axial view; C: coronal view; D: sagittal view.

3 讨 论

本研究中猕猴大脑运动区占位病变模型中的球囊注水渐进式增多，逐渐压迫大脑皮层，可较好地模拟临床过程，实验对象虽仅限于两只猕猴，但两者的临床表现、影像学和实验数据等检测指标合理可信，易于重复。由于 DTI 能够敏感定量分析大脑的微细结构,而且在大脑白质纤维的成像方面具有独到之处 (Tang et al,2012)，故可用于监测模型病变对侧 CST 动态变化过程。而 FA 能够量化水分子扩散的各向异性程度， FA 值升高代表 CST 传导功能升高 (Jellison et al,2004)，可用于评价脑白质纤维的完整程度。

实验中两只猕猴行球囊置入手术后均出现了对侧肢体偏瘫，DTI 敏感观察到球囊置入手术后病变健侧 CST 出现代偿，短期内，即使占位解除这一作用仍明显，大脑皮质总体积 3%为神经元胞体，其余 97%为轴突、树突和神经胶质等，当部分神经元死亡，功能下降时，周围存活细胞中大量的轴突可通过侧枝出芽取代损伤的轴突，重建已散失神经支配的组织的神经控制 (Fenrich et al,2007)，同时，成年动物大脑中轴突分枝非常稳定, 轴突也保留着一定程度的结构可塑性 (Rao et al,2012)。因此，神经细胞轴突代偿可导致平行于 CST 走向的水分子

运动增加，同时，髓鞘也可能由于代偿性改变而导致垂直于 CST 走向的水分子运动受限增加、自由度减少，而两者的共同作用将导致病变对侧 FA 值升高。球囊取出后，由于肢体功能尚未恢复，可能存在的反馈作用导致短期内健侧 ROI 区域 FA 值仍然升高，提示健侧 CST 出现代偿作用。Yeo et al (2010) 发现一侧桥脑出血患者的对侧运动皮质代偿、参与肢体运动恢复的皮质重组，或其他相关纤维束的代偿作用，可能有助于其肢体功能恢复，支持本实验结果。

综上所述，我们认为猕猴大脑运动区占位病变健侧 CST 可出现代偿现象，且该现象即使在占位解除后的短期内仍然明显，提示健侧 CST 参与肢体功能的恢复，推测患者锻炼健侧肢体有助于患侧肢体功能的恢复。

参考文献：

Barrick TR, Clark CA. 2004. Singularities in diffusion tensor fields and their relevance in white matter fiber tractography. *Neuroimage,* **22**(2): 481-491.

Beaulieu C, Allen PS. 1994. Water diffusion in the giant axon of the squid: implications for diffusion weighted MRI of the nervous system. *Magnetic Resonance in Medicine,* **32**(5): 579-583.

Chenevert TI, Brunberg JA, Pipe JG. 1990. Anisotropic diffusion within human white matter: demonstration with NMR techniques in *vivo*. *Radiology,* **177**(2): 401-405.

Dong Y. 2006. Motor cortex activation during treatment may predict therapeutic gains in paretic hand function after stroke. *Stroke,* **37**(6): 1552-1555.

Eriksson SH, Rugg-Gunn FJ, Symms MR, Barker GJ, Duncan JS. 2001. Diffusion tensor imaging in patients with epilepsy and malformations of cortical development. *Brain,* **124**(Pt 3): 617-626.

Fenrich KK, Skelton N, MacDermid VE, Meehan CF, Armstrong S, Neuber-Hess MS, Rose PK. 2007. Axonal regeneration and development of de novo axons from distal dendrites of adult feline commissural interneurons after a proximal axotomy. *Journal of Comparative Neurology,* **502**(6): 1079-1097.

Jellison BJ, Field AS, Medow J, Lazar M, Salamat MS, Alexander AL. 2004. Diffusion tensor imaging of cerebral white matter: a pictorial review of physics, fiber tract anatomy, and tumor imaging patterns. *American Journal of Neuroradiology,* **25**(3): 356-369.

Klose U, Mader I, Unrath A, Erb M, Grodd W. 2004. Directional correlation in white matter tracks of the human brain. *Journal of Magnetic Resonance Imaging,* **20**(1): 25-30.

Kuai XL, Gagliardi C, Flaat M, Bunnell BA. 2009. Differentiation of nonhuman primate embryonic stem cells along neural lineages. *Differentiation,* **77**(3): 229-238.

Le Bihan D. 2003. Looking into the functional architecture of the brain with diffusion MRI. *Nature Reviews Neuroscience,* **4**(6): 469-480.

Liao CH, Su B. 2012. Research proceedings on primate comparative genomics. *Zoological Research,* **33**(1): 108-118. [廖承红, 宿兵. 2012. 灵长类比较基因组学的研究进展. 动物学研究, **33**(1): 108-118.]

Meintzschel F, Ziemann U. 2006. Modification of practice-dependent plasticity in human motor cortex by neuromodulators. *Cerebral Cortex,* **16**(8): 1106-1115.

Rao XP, Xu ZX, Xu FQ. 2012. Progress in activity-dependent structural plasticity of neural circuits in cortex. *Zoological Research,* **33**(5): 527-536. [饶小平, 许智祥, 徐富强. 2012. 大脑皮层内活动依赖的神经环路结构可塑性研究进展. 动物学研究, **33**(5): 527-536.]

Susan S. 2005. Gray`s Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice, 39/E. London: Elsevier, 458-562.

Tang XY, Xia LM, Zhu WZ. 2012. DTI study off relationship between infarction damage as well as Wallerian degeneration of CTS and motor function following chronic cerebral infarction. *Radiologic Practice,* **27**(5): 484-488. [汤翔宇, 夏黎明, 朱文珍. 2012. 慢性期脑梗死患者脑梗死灶扩散变化及 Wallerian 变性与运动功能关系 DTI 研究. 放射学实践, **27**(5): 484-488.]

Teasdale G, Jennett B. 1974. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet,* **2**(7872): 81-84.

Yeo SS, Choi BY, Chang CH, Jang SH. 2010. Transpontine connection fibers between corticospinal tracts in hemiparetic patients with intracerebral hemorrhage. *European Neurology,* **63**(3): 154-158.

Yu CS, Zhu CZ, Zhang YJ, Chen H, Qin W, Wang ML, Li KC. 2009. A longitudinal diffusion tensor imaging study on Wallerian degeneration of corticospinal tract after motor pathway stroke. *Neuroimage,* **47**(2): 451-458.